

ミトコンドリア DNA の塩基配列分析による日本産ドジョウの遺伝的集団構造 Genetic population structure of the Japanese loach based on mitochondrial DNA

○小出水規行*・竹村武士*・森 淳*・奥島 修二*

Noriyuki KOIZUMI, Takeshi TAKEMURA, Atsushi MORI and Shuji OKUSHIMA

1. はじめに

ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* は日本全国に分布する農村水域の代表魚類であり、これまでの圃場整備等に伴う環境変化により、その生息量は減少したとされている。そして近年、鳥類等の餌として中国産ドジョウが放流され、国内産ドジョウは交雑による遺伝汚染を避けられない状態であり、種の健全性さえも危ぶまれるようになった。

本発表では国内産ドジョウの資源保全に向けて、ミトコンドリアDNAの塩基配列分析による遺伝的集団構造を解析する。これまで農村に生息している魚類では、メダカが2つ、ホトケドジョウが6つの遺伝的集団（Takehanaら、2003；Miharaら2005）から構成されていると推定されている。

2. 材料と方法

- 1) 分析には、2006年の田んぼの生きもの調査によって採捕され、エタノール固定された38道府県87地点のドジョウ各1個体を利用した。事前に国産であることを形態的特徴により確認し、分析個体の尾ヒレ切片（2mm四方）から全DNAを抽出した。
- 2) ミトコンドリアDNAの分析塩基配列として、1,000塩基程度のチトクロームb及びD-loopと呼ばれる2つの配列を対象にした。チトクロームbは遺伝子配列であり、その配列の進化（変異）速度は1塩基あたり平均50～100万年とされ、種判別標識としても利用されている。一方、D-loopは遺伝的機能をもたない調節領域の配列であり、その進化速度は1塩基あたり平均1～10万年であることから、チトクロームbよりも速く、種内変異標識として汎用されている。
- 3) 各個体の抽出DNAを用いて、それぞれの分析配列をPCR増幅し、その増幅産物を精製したものから塩基配列を決定した。PCR増幅に必要なプライマー等についてはTangら（2006）及びMiharaら（2005）を参考にした。
- 4) 得られたチトクロームb及びD-loopの塩基配列について、中国産ドジョウの既存配列を加えて整列させ、それぞれ近隣接合法による系統樹を作成した。ブートストラップ法を援用し、分岐確率70%以上のグループを遺伝的分集団とみなした。

3. 結果と考察

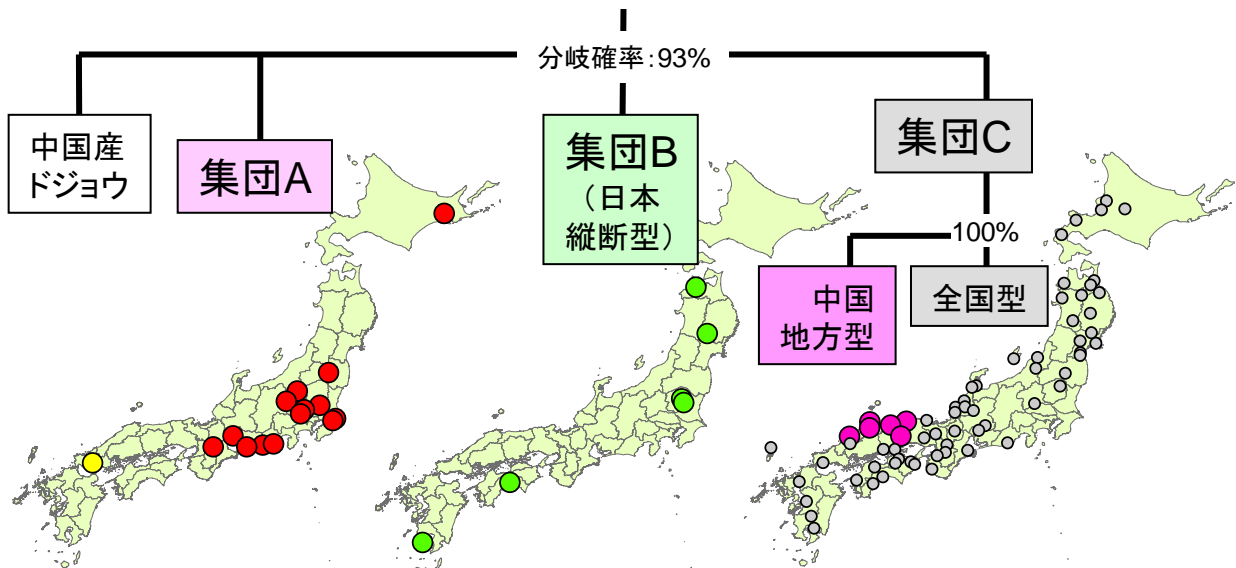
- 1) チトクロームb及びD-loopの塩基配列から、国内産ドジョウは3つの遺伝的集団（集団A～C）から構成されていると推察された（図1）。集団Aは中国産ドジョウに近い配列をもち、関東から東海地方にかけて分布する。ただし、この集団が中国産ドジョウとの交雑履歴をもつものかについては、他の塩基配列による分析が必要である。

*農村工学研究所 National Institute for Rural Engineering、キーワード：日本産ドジョウ、ミトコンドリアDNA、遺伝的集団構造

2) 集団 B と C はいわゆる純国産のものが分岐したものと考えられた。ここではチトクローム b の結果に着目すると、集団 B は日本縦断型、集団 C は中国地方型と全国型にそれぞれ分けられた (図 1)。

3) 集団 B と C において D-loop の結果に集団型が現れなかったことは、配列進化が飽和状態にあることも考えられる。今後は分析個体数を増やすことにより、以上の結果を追証することが課題である。

チトクローム b



D-loop

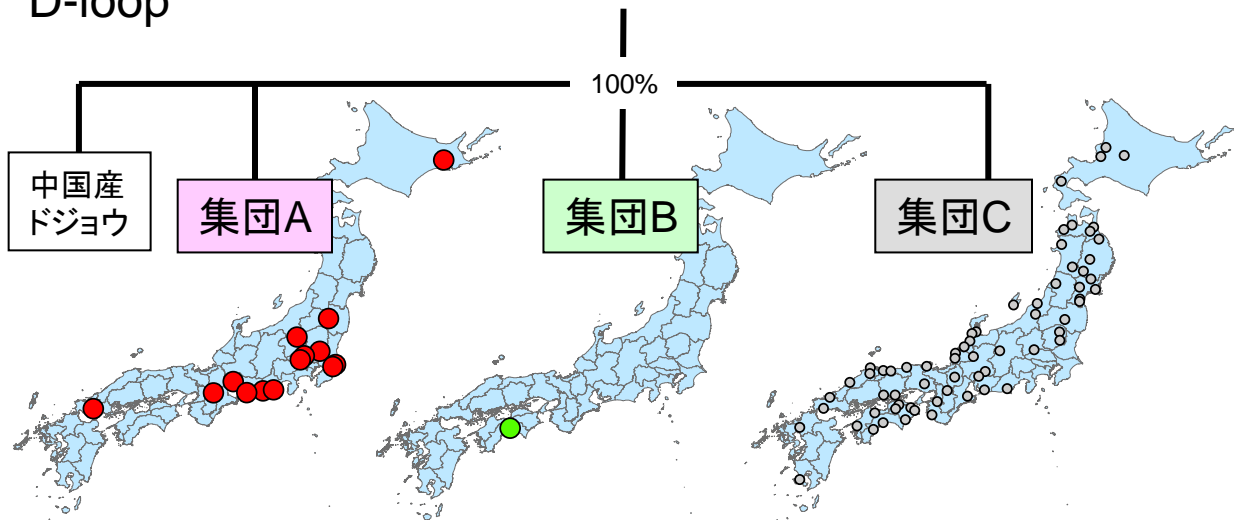


図 1 日本国産ドジョウの遺伝的集団の分布 Geographic distribution of the Japanese loach inferred from mitochondrial DNA sequences

引用文献

Mihara ら (2005) : *Zoological Science*, **22**, 157-168. Takehana ら (2003) : *Zoological Science*, **20**, 1279-1291. Tang ら (2006) : *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **39**, 347-357.